

• 临床研究 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2025.10.019

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.r.20250609.1540.018\(2025-06-10\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.r.20250609.1540.018(2025-06-10))

# 基于网络药理学和临床观察探讨妇科养荣胶囊联合来曲唑对无排卵性不孕的疗效及机制<sup>\*</sup>

蒲元芳<sup>1</sup>, 刘宏明<sup>2</sup>, 殷丽<sup>1△</sup>, 周丽娜<sup>1</sup>, 陈琳<sup>1</sup>

(重庆医科大学附属南川医院:1. 妇科;2. 药剂科, 重庆 408400)

**[摘要]** 目的 运用网络药理学和临床观察方法, 探讨妇科养荣胶囊(FKYRC)联合来曲唑治疗无排卵性不孕(AI)的临床疗效和机制。方法 选择 2023 年 1 月至 2024 年 7 月在该院就诊的 AI 患者 110 例为研究对象, 按照治疗方法分为中药组( $n=30$ , 仅采用 FKYRC 治疗)、西药组( $n=40$ , 仅采用来曲唑治疗)、联合治疗组( $n=40$ , FKYRC+来曲唑治疗)。治疗 4 个周期后, 比较各组治疗后的总有效率、卵泡最大径、排卵前子宫内膜厚度、排卵率、妊娠率、胚胎成活率。利用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)及 GeneCards 数据库分别获取 FKYRC 的核心活性成分、作用靶点及 AI 的相关靶点, 筛选共同靶点, 再通过构建蛋白相互作用(PPI)网络, 利用基因本体论(GO)与京都基因和基因组数据库(KEGG)通路富集分析并通过微生信平台进行可视化分析, 最后进行三维可视化分析。结果 中药组、西药组、联合治疗组临床总有效率依次为 90.00%、92.50%、97.50%; 排卵率依次为 60.00%、70.00%、87.50%; 妊娠率依次为 33.33%、37.5%、60.00%; 胚胎成活率依次为 60.00%、73.30%、95.80%, 组间比较差异均有统计学意义( $P<0.05$ ); 联合治疗组卵泡最大径、排卵前子宫内膜厚度均高于中药组和西药组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。网络药理学发现 FKYRC 有效成分 239 个, 作用靶基因 3977 个, 筛选后活性成分 200 个, 靶基因 299 个; 得到疾病靶点基因 478 个、交集潜在作用靶点 38 个, 核心靶点 19 个。GO 富集分析显示, 分子功能、细胞组分、生物过程的通路主要为细胞内类固醇受体信号通路、雌激素反应元件、雌激素受体活性、核染色质等; KEGG 通路富集分析结果显示, FKYRC 抗 AI 核心靶点主要富集于雌激素信号通路、P53 信号通路、糖尿病并发症晚期糖基化终产物受体(AGE-RAGE)等信号通路。FKYRC 抗 AI 的关键靶点为两种雌激素受体(ESR1 与 ESR2)、类固醇受体(AR)和过氧化物酶增殖物激活受体-γ(PPARG)。结论 FKYRC 联合来曲唑治疗可改善 AI 患者临床症状, 提高排卵率、妊娠率和胚胎成活率。FKYRC 中的活性成分能够综合调节 AI 的核心靶点, 可能通过雌激素信号通路、P53 信号通路、AGE-RAGE 等信号通路促进 AI 患者的卵泡发育成熟, 提高妊娠率。

**[关键词]** 网络药理学; 排卵障碍不孕症; 妇科养荣胶囊; 来曲唑; 分子对接

**[中图法分类号]** R711.6      **[文献标识码]** A      **[文章编号]** 1671-8348(2025)10-2348-09

## Efficacy and mechanism of FuKe Yangrong capsule combined with letrozole in treating anovulatory infertility based on network pharmacology and clinical observation<sup>\*</sup>

PU Yuanfang<sup>1</sup>, LIU Hongming<sup>2</sup>, YIN Li<sup>1△</sup>, ZHOU Lina<sup>1</sup>, CHEN Lin<sup>1</sup>

(1. Department of Gynecology; 2. Department of Pharmacy, Nanchuan Hospital Affiliated to Chongqing Medical University, Chongqing 408400, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the clinical efficacy and mechanism of FuKe Yangrong capsule (FKYRC) in treating anovulatory infertility (AI) using network pharmacology and clinical observation methods. **Methods** A total of 110 AI patients who visited the hospital from January 2023 to July 2024 were selected as the research subjects. They were divided into three groups according to the treatment method: traditional Chinese medicine treatment group ( $n=30$ , treated only with FKYRC), western medicine treatment group ( $n=40$ , treated only with letrozole), and combination treatment group ( $n=40$ , treated only with FKYRC+letrozole). After 4 cycles of treatment, the total effective rate, maximum follicle diameter, pre-ovulation endometrial thickness, ovulation rate and pregnancy rate, and embryo survival rate of each group were compared af-

\* 基金项目:重庆市科卫联合医学科研项目(2023MSXM09)。 △ 通信作者, E-mail:15123685118@163.com。

ter treatment. Using the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) and GeneCards database, the core active ingredients, target proteins, and AI related targets of FKYRC were obtained, and common targets were screened. Then, a protein-protein interaction (PPI) network was constructed, and gene ontology (GO) function and Kyoto Gene and Genome Database (KEGG) pathway enrichment analysis were performed using a bioinformatics platform for visualization. Finally, three-dimensional visualization analysis was performed. **Results** The total clinical efficacy of the traditional Chinese medicine group, western medicine group, and combination therapy group were 90.00%, 92.50%, and 97.50%, respectively. The ovulation rates were 60.00%, 70.00%, and 87.50%, respectively. The pregnancy rates were 33.33%, 37.5%, and 60.00%, respectively. The survival rates of embryos were 60.00%, 73.30%, and 95.80%, respectively, and the differences between the groups were statistically significant ( $P < 0.05$ ). The maximum follicle diameter and pre-ovulation endometrial thickness in the combination therapy group were higher than those in the traditional Chinese medicine group and the western medicine group, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). Network pharmacology discovered 239 active ingredients and 3 977 target genes in FKYRC. After screening, 200 active ingredients and 299 target genes were identified. A total of 478 disease target genes, 38 potential interaction targets, and 19 core targets were obtained. Molecular functions, cellular components, and biological processes mainly involved steroid protein binding, estrogen response elements, estrogen receptor activity, nuclear chromatin, and other aspects. KEGG pathway enrichment analysis showed that FKYRC anti AI core targets were mainly enriched in estrogen signaling pathway, P53 signaling pathway, advanced glycation end product receptor (AGE-RAGE) of diabetes complications and other signaling pathways. The key targets of FKYRC against AI were two estrogen receptors (ESR1 and ESR2), steroid receptor (AR), and peroxisome proliferator activated receptor - $\gamma$  (PPARG). **Conclusion** The combined treatment of FKYRC and letrozole can improve AI patients' clinical symptoms, increase ovulation rate, pregnancy rate, and embryo survival rate. The active ingredients in FKYRC can comprehensively regulate the core targets of AI, and may promote follicular development and maturation in infertile patients with ovulation disorders through signaling pathways such as estrogen, P53, and AGE-RAGE, thereby increasing pregnancy rate.

**[Key words]** network pharmacology; anovulatory infertility; FuKe Yangrong capsule; letrozole; molecular docking

无排卵性不孕(anovulatory infertility, AI)是女性卵泡发育障碍或成熟后排出异常,致精子无法与卵子结合,难以受孕的现象,占不孕症的25%~35%<sup>[1]</sup>。AI作为妇科常见疾病之一,严重影响女性生育健康和生活质量。传统药物治疗包括氯米芬、促性腺激素释放激素拮抗剂(gonadotropin-releasing hormone-antagonist, GnRH-an)、来曲唑等,可以促进排卵和缓解内分泌失调相关症状,但长期应用会增加卵巢过度刺激综合征或其他生殖系统肿瘤的发生风险<sup>[2-3]</sup>。因此,探索更为安全有效的治疗方案显得尤为重要。

妇科养荣胶囊(FuKe Yangrong capsule, FKYRC)结合古代八珍汤与现代中医学研究,补充加入黄芪、阿胶、麦冬、杜仲、益母草、香附子等药材<sup>[4]</sup>。目前药理学研究表明,该药可益气活血,补肾疏肝,用于治疗气血不足、肝郁不舒、月经不调、头晕目眩、血漏血崩、贫血身弱及不孕症<sup>[5]</sup>。

网络药理学突破传统的“一个基因、一个药物、一个疾病”理念,基于系统层次和生物网络整体角度,在分子靶点作用层面建立网络,系统观察中药对整个疾

病的调控作用,有助于阐述中药多成分、多靶点、多途径协同作用的机制<sup>[6]</sup>。被广泛用于药物和中药活性化合物发现、整体作用机制阐释、药物组合和方剂配伍规律解析等<sup>[7-8]</sup>。本研究通过网络药理学方法筛选 FKYRC 治疗 AI 的核心靶点及有效成分,并探讨与靶点、信号通路等之间的联系的同时,在临床验证其疗效。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选择2023年1月至2024年7月在本院就诊,符合AI诊断标准的患者150例为研究对象,观察期间,脱离40例,最终纳入110例。纳入标准:(1)患者知情同意,自愿受试;(2)21~42岁有生育需求的不孕患者;(3)输卵管造影表明子宫的形状及状态正常,且输卵管至少一侧通畅;(4)近半年内未接受促排卵方案的治疗;(5)黄体中期的血清孕酮水平低于正常范围;(6)基础体温变化不规律且无典型双相;(7)影像学检查无排卵或未破裂卵泡黄素化综合征(luteinized unruptured follicle syndrome, LUFS)等表现<sup>[9]</sup>。排除

标准:(1)生殖系统的先天性生理缺陷和畸形<sup>[10]</sup>;(2)先天性腺发育缺陷;(3)精神疾病不能配合临床观察,或其他系统严重并发症;(4)血清免疫抗体检查异常;(5)有生殖系统器质性疾病,如子宫良性肿瘤、子宫内膜异位症等而不能生育者;(6)不愿意接受调查者。剔除标准:(1)同时服用其他有影响药物者;(2)不愿再接受本研究的治疗和检查者;(3)治疗中未按规定治疗者;(4)资料缺失或无治疗记录者;(5)治疗中发生过敏症或严重并发症,不适宜继续接受试验者。

按照治疗方法,将 110 例研究对象分为 3 组,中药组 30 例,年龄 22~36 岁,平均(29.07±4.14)岁;病程 1~9 年,平均(3.47±1.57)年;初潮年龄 11~15 岁,平均(13.00±1.34)岁。西药组 40 例,年龄 21~33 岁,平均(27.53±3.26)岁;病程 1~5 年,平均(1.98±1.16)年;初潮年龄 11~15 岁,平均(13.08±1.21)岁。联合治疗组 40 例,年龄 21~37 岁,平均(26.93±4.20)岁;病程 1~10 年,平均(2.15±1.83)年;初潮年龄 11~15 岁,平均(13.20±1.11)岁。3 组年龄、病程、初潮年龄等一般资料比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。本研究已通过本院伦理委员会的审批(审批号:YXYJ-2022-007),患者均知情同意本研究。

## 1.2 方法

中药组:月经周期第 5 天,每天 3 次,每次给予患者 FKYRC(国药准字 Z20173027,陕西得安制药有限责任公司,规格为每粒 0.35 g)1.4 g,口服,连服 4 个周期。

西药组:月经周期第 5 天,每天 1 次,给予患者来曲唑(国药准字 H20133109,浙江海正药业股份有限公司,规格 2.5 mg/片)2.5 mg,口服,连用 5 d,不超过 4 个周期。

联合治疗组:月经周期第 5 天,每天 3 次,每次给予患者 FKYRC 1.4 g,口服,连服 3 个周期。于第 4 个周期在患者月经周期第 5 天,给予患者来曲唑 2.5 mg,每天 1 次,以及 FKYRC 1.4 g,每天 3 次,口服。

本研究以患者 1 个月经周期为 1 个治疗周期,3 组患者均服药至超声监测确认排卵为止,在此期间指导同房时机,治疗期间建议配合适当体育锻炼及饮食调整。于下一周期开始时判断上一周期的临床疗效,若 1 个周期后患者妊娠,则治疗止于此周期,临床疗效视为痊愈。随访每组受试者于排卵期同房后 2 个月的妊娠情况,无论是否妊娠均结束本研究。

## 1.3 观察指标

(1)记录患者治疗 4 个周期的月经周期、经量、颜色及质地的变化,并根据疗效积分法对治疗前后临床症状及体征分别进行评分。(2)观察并计算治疗后排卵率、妊娠率、胚胎存活率。妊娠判定:①血或尿  $\beta$ -人绒毛膜促性腺激素( $\beta$ -human chorionic gonadotro-

phin, $\beta$ -HCG)升高;②宫腔内见到妊娠囊<sup>[1]</sup>。(3)监测并记录治疗前后卵泡最大径及雌二醇(estradiol, E<sub>2</sub>)、促卵泡激素(follicle-stimulating hormone, FSH)、促黄体生成素(luteinizing hormone, LH)水平、排卵前子宫内膜厚度。(4)疗效标准:参照 2002 版《中药新药临床研究指导原则》,采用尼莫地平法计算。中医证候疗效依据积分法判定:疗效指数=(治疗前积分-治疗后积分)/治疗前积分×100%。疗效划分如下:①治愈,即治疗 3 个周期后,妊娠或各中医症状基本消失,疗效指数≥95%;②显效,即治疗 3 个周期后,各中医症状明显好转,疗效指数为 70%~<95%;③有效,治疗 3 个周期后,各中医症状减轻,疗效指数为 30%~<70%;④无效,治疗 3 个周期后,各中医症状无出现减轻或症状加重,疗效指数<30%<sup>[11]</sup>。以治愈、显效及有效视为总有效率=(治愈例数+显效例数+有效例数)/总例数×100%。

## 1.4 网络药理学分析

### 1.4.1 中药有效成分与靶点的筛选

在中药系统药理学数据库与分析平台(Traditional Chinese Medicine System Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP)中查找 FKYRC 中艾叶、白术、白芍、陈皮、杜仲、茯苓、甘草、黄芪、川芎、熟地黄、香附、砂仁、益母草、当归等成分,设置口服生物利用度≥30%,类药性≥0.18 为筛选条件。另外,在本草组查找麦冬与阿胶有效成分,结合 TCMSP 分别筛选其主要活性成分和基因靶点。通过 Uniprot 官网(<https://www.uniprot.org>)将 Target name 转化为 Symbol name。

### 1.4.2 疾病靶点的收集

在 GeneCards、OMIM 和 Drugbank 数据库中检索“anovulatory infertility(无排卵性不孕)”,基于相关评分,通过合并去重后,最终获得 AI 的基因靶点。

### 1.4.3 构建中药成分与疾病靶点交互网络

利用 Venny 绘图软件将 FKYRC 中活性成分与 AI 的基因靶点导入,获取 FKYRC 抗 AI 的潜在作用靶点,并绘制 Venny 图。同时利用 Cytoscape3.8.2 软件将所得交集靶点与活性成分进行可视化分析,并用软件 Analyze network 工具分析 Degree 值。

### 1.4.4 FKYRC 与 AI 蛋白质相互作用网络(protein-protein interaction network, PPI)的构建

将 FKYRC 与 AI 的共同靶点导入 String 数据库中,种属为智人,置信度为 0.4,得到 FKYRC 的 PPI。利用 Cytoscape3.8.2 软件中 Analyze network 工具分析 PPI 结果,按 Degree 值大小排序筛选后得到核心靶点(Degree 值≥中位数)。

### 1.4.5 基因本体(gene ontology, GO)与京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and

genomes,KEGG)信号通路富集分析

将筛选出的 FKYRC 抗 AI 的核心靶点导入 David 数据库,选择官方基因符号作为标识符,物种为智人,数据类型选择基因列表,得到 GO 和 KEGG 富集分析结果,利用微生信平台对结果进行可视化处理。

#### 1.4.6 疾病-活性成分-核心靶点-通路网络构建

使用 Cytoscape3.8.2 软件绘制 FKYRC 抗 AI 的核心靶点与其活性成分,以及 AI 和关键信号通路相互作用网络图,并用软件中的 Analyze network 工具分析 Degree 值。

#### 1.4.7 分子对接

按疾病-活性成分-核心靶点-通路网络中 Degree 值大小分别分析筛选出最终核心成分和靶点,在 PubChem 中下载活性成分的 3D 结构,利用 Openbabel3.1.1 软件将文件转换为 PDB 格式。在 Uniprot 和 PDB 数据库中筛选下载核心靶点的蛋白结构,利用 Pymol2.5.4 软件

移除蛋白中的配体和水分子结构。将处理好的蛋白结构和活性成分小分子在 Autodock 软件中加氢,再利用 Autodock vina 程序进行分子对接,并将结果用 Pymol2.5.4 软件可视化。

#### 1.5 统计学处理

建立临床病例数据收集表,以 Excel 建立数据库,导入 SPSS25.0 软件进行统计学处理。正态分布的计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用方差分析;计数资料采用例数或百分比表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结 果

#### 2.1 3 组治疗后总有效率比较

治疗后,中药组、西药组、联合治疗组总有效率分别为 90.00%、92.50%、97.50%,联合治疗组总有效率优于中药组和西药组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),见表 1。

表 1 3 组治疗后总有效率比较 [ $n(%)$ ]

组别	$n$	治愈	显效	有效	无效	总有效
联合治疗组	40	6(15.00)	24(60.00)	9(22.50)	1(2.50)	39(97.50)
中药组	30	4(13.33)	13(43.33)	10(33.33)	3(10.00)	27(90.00) <sup>a</sup>
西药组	40	7(17.50)	18(45.00)	12(30.00)	3(7.50)	37(92.50) <sup>a</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ ,与联合治疗组比较。

#### 2.2 3 组排卵率、妊娠率、胚胎成活率比较

通过 B 超监测,治疗后联合治疗组排卵率、妊娠率及胚胎成活率均高于中药组和西药组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),见表 2。

表 2 3 组治疗后排卵率、妊娠率、胚胎成活率比较 [ $n(%)$ ]

组别	$n$	排卵	妊娠	胚胎成活
联合治疗组	40	35(87.50)	24(60.00)	23(95.80)
中药组	30	18(60.00) <sup>a</sup>	10(33.33) <sup>a</sup>	6(60.00) <sup>a</sup>
西药组	40	28(70.00) <sup>a</sup>	15(37.50) <sup>a</sup>	11(73.30) <sup>a</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ ,与联合治疗组比较。

#### 2.3 3 组卵泡最大径、排卵前子宫内膜厚度的比较

治疗前,3 组卵泡最大径、排卵前子宫内膜厚度比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ );治疗后联合治疗组卵泡最大径、排卵前子宫内膜厚度均高于中药组、西药组 ( $P < 0.05$ );中药组、西药组比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见表 3。

#### 2.4 3 组治疗后激素水平的比较

治疗后,联合治疗组的  $E_2$  水平均高于中药组和西药组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),但 3 组间的 FSH、LH 水平及 LH/FSH 比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见表 4。

表 3 3 组治疗前后卵泡最大径及内膜厚度比较 ( $\bar{x} \pm s$ , mm)

项目	联合治疗组 ( $n=40$ )	中药组 ( $n=30$ )	西药组 ( $n=40$ )
排卵前子宫内膜厚度			
治疗前	5.58±2.67	7.29±3.45	6.42±2.37
治疗后	10.60±2.75	10.14±3.36 <sup>a</sup>	10.00±2.67 <sup>a</sup>
卵泡最大径			
治疗前	12.00±2.19	12.83±1.70	12.59±2.98
治疗后	16.62±1.03	16.05±1.30 <sup>a</sup>	16.49±1.36 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ ,与治疗后联合治疗组比较。

表 4 月经第 3 天 3 组激素水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	联合治疗组 ( $n=40$ )	中药组 ( $n=30$ )	西药组 ( $n=40$ )
$E_2$ (pg/mL)			
治疗前	122.04±46.39	137.02±48.56	138.66±43.12
治疗后	199.49±48.30	163.43±74.09 <sup>a</sup>	162.77±62.06 <sup>a</sup>
FSH(mIU/mL)			
治疗前	8.78±3.52	10.19±3.37	9.43±4.05
治疗后	7.05±2.40	9.71±1.02	8.66±2.46
LH(mIU/mL)			
治疗前	12.96±13.01	10.70±3.45	10.05±4.10
治疗后	9.70±1.84	9.74±1.30	9.58±0.90

续表 4 月经第 3 天 3 组激素水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

项目	联合治疗组 (n=40)	中药组 (n=30)	西药组 (n=40)
LH/FSH			
治疗前	1.68±2.00	1.15±0.52	1.14±0.52
治疗后	1.45±0.44	1.03±0.22	1.01±0.08

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与治疗后联合治疗组比较。

## 2.5 FKYRC 活性成分和靶点预测

通过 TCMSP 数据库查找到当归、白术、熟地黄、川芎、白芍、香附、益母草、黄芪、杜仲、艾叶、甘草、陈皮、茯苓、砂仁的活性成分共计 236 个, Herb 数据库查找麦冬、阿胶 3 个, 合计 239 个。由于阿胶无对应预测靶点, 因此表 5 仅列出 238 个活性成分, 对应靶基因 3 977 个, 去除重复项后, 得到活性成分 200 个, 靶基因 299 个。将得到的靶点在 Uniprot 数据库中检索, 最终得到已验证的人源基因 299 个 Gene symbol, 见表 5。

## 2.6 AI 疾病靶点与筛选

在 Genecards、OMMI 和 Drugbank 中检索关键词“anovulatory infertility(无排卵不孕症)”, 得到相关疾病靶点基因, 其中在 OMMI 数据库获得 341 个, Drugbank 数据库 8 个, Genecards 数据库 144 个。去除重复项后得到 478 个。将 FKYRC 潜在靶点与 AI 靶点绘制 Venny 图, 得到 FKYRC 抗 AI 潜在作用靶

点 38 个。同时, 将筛选得到的共同靶基因与活性成分导入 Cytoscape3.8.2 软件分析计算 Degree 值, 其值越大, 则相应的节点面积越大, 见图 1。

表 5 FKYRC 活性成分和预测靶点数

中药	活性成分	靶基因(单味中药去重)
当归	2	52
白术	7	19
熟地黄	2	31
川芎	7	30
白芍	13	89
香附	18	223
益母草	8	208
黄芪	20	208
杜仲	28	212
艾叶	9	179
甘草	92	229
陈皮	5	68
茯苓	15	22
砂仁	10	53
麦冬	2	33

## 2.7 PPI 的构建与分析

将 38 个共有靶点导入 String 数据库, 设置物种为“Homo sapiens”, 置信度  $> 0.4$ , 去除游离的蛋白, 得到 36 个 PPI 图, 分析得到 Degree 值  $\geqslant$  中位数为条件, 筛选出 19 个核心靶点, 见表 6。

表 6 FKYRC 抗 AI 核心靶点

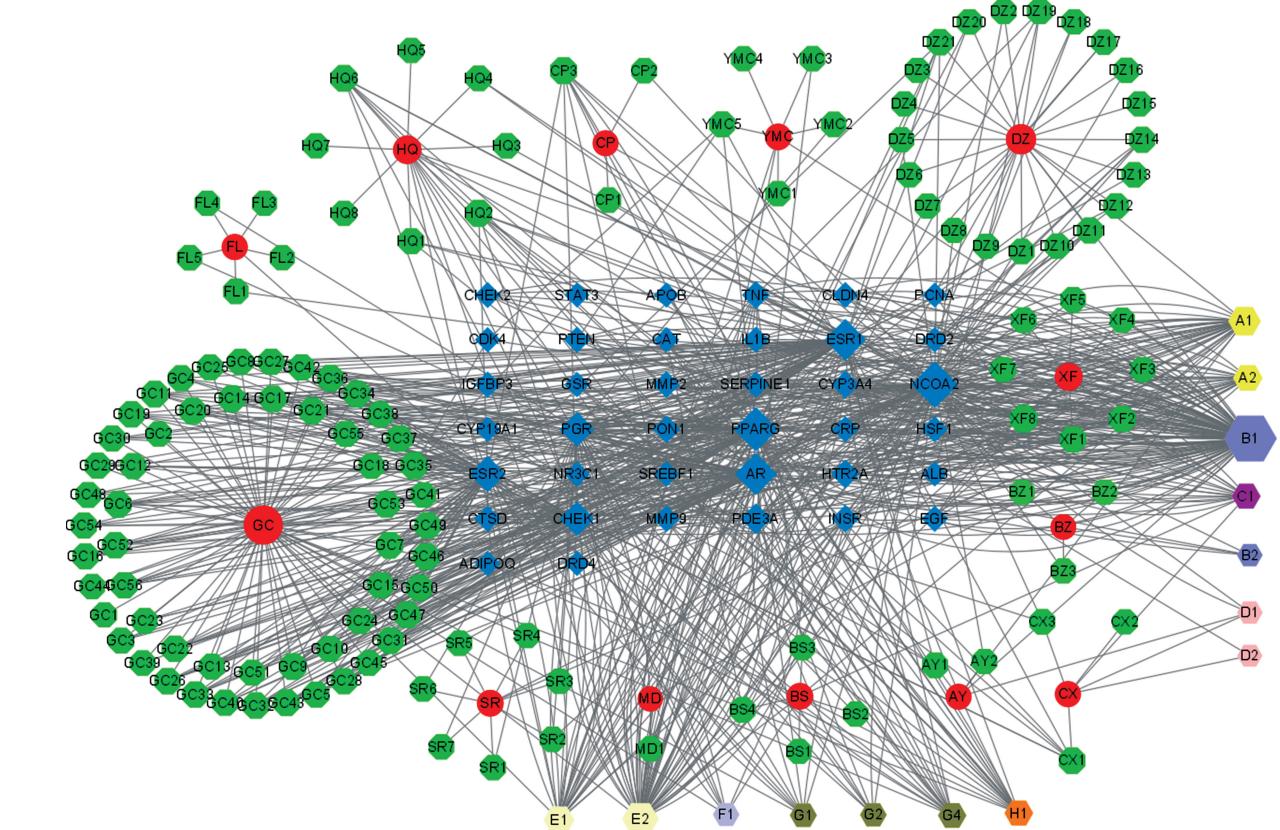
基因靶点	中文名称	Degree 值	基因靶点	中文名称	Degree 值
ESR1	雌激素受体 1	28	ADIPORQ	含脂联素、C1Q 和胶原结构域	18
IL-1 $\beta$	白细胞介素-1 $\beta$	26	NR3C1	核受体亚家族 3 C 组成员 1	18
ALB	白蛋白	26	CDK4	周期蛋白依赖性激酶 4	18
TNF	肿瘤坏死因子	26	PGR	孕激素受体	18
SATA3	信号转导与转录因子 3	25	SERPINE1	Serpin 家族 E 成员 1	17
PPARG	过氧化物酶体增殖物激活受体- $\gamma$	25	MMP2	基质金属蛋白酶 2	17
EGF	表皮生长因子	20	CRP	C 反应蛋白	16
PTEN	磷酸酶与张力蛋白同源物	20	ESR2	雌激素受体 2	16
MMP9	基质金属蛋白酶 9	19	IGFBP3	胰岛素样生长因子结合蛋白	16
AR	类固醇受体	19			

## 2.8 GO 与 KEGG 通路富集分析

将 19 个核心靶点导入 David 数据库, 以  $P < 0.01$  为筛选标准, 得到 GO 富集分析结果。其中包括生物过程(biological process, BP) 200 个、细胞组分(cellular component, CC) 29 个、分子功能(molecular function, MF) 51 个。BP 主要包括细胞内类固醇受体信号通路、对外源性刺激的反应等; CC 主要包括核染色质、细胞外区域等; MF 主要包括 RNA 聚合酶 II 转录因子结合、相同蛋白结合、类固醇结合等, 见图 2。3

种生物过程按照  $P$  值排序后取前 10 位进行可视化分析, 结果显示 KEGG 信号通路富集结果共 43 条, 按照矫正后的  $P$  值, 即假发现率(false discovery rate, FDR)筛选排序后, 选择前 20 条进行可视化分析, 见图 3。富集结果显示, 其 FKYRC 抗 AI 核心靶点主要与雌激素信号通路、P53 信号通路、糖尿病并发症晚期糖基化终末产物受体(advanced glycation end products receptor, AGE-RAGE)信号通路、癌症相关通路、非酒精性脂肪性肝病通路等相关。其中尤以雌

激素信号通路富集程度最高。



蓝色: 交集基因; 红色: 中药, GC 为甘草, FL 为茯苓, HQ 为黄芪, CP 为陈皮, YMC 为益母草, DZ 为杜仲, XF 为香附, BZ 为白术, CX 为川芎, AY 为艾叶, BS 为白芍, MD 为麦冬, SR 为砂仁; 绿色: 中药活性成分; A1: 木犀草素; B1: 槲皮素; E2: 甘草查尔酮 A。

图 1 FKYRC 与交集靶点网络

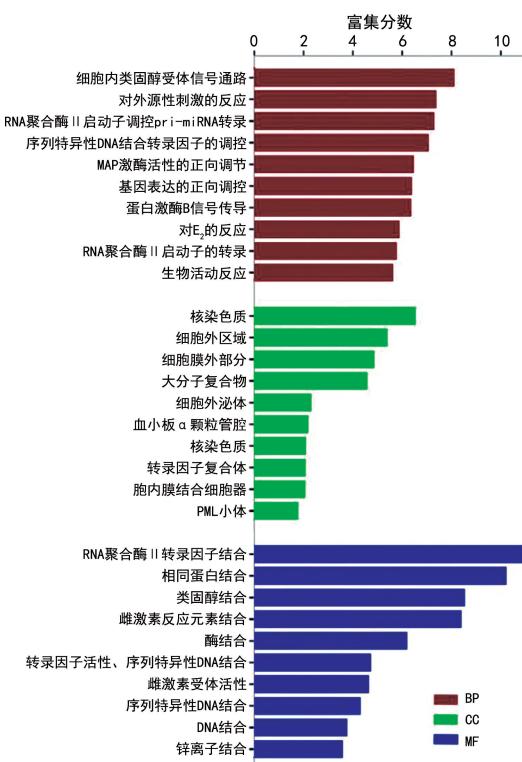


图 2 FKYRC 抗 AI 核心靶点的 GO 富集分析

## 2.9 FKYRC 抗 AI 的疾病-成分-靶点-通路网络

将 FKYRC 抗 AI 的核心活性成分、基因靶点、信

号通路导入 Cytoscape3.8.2 软件中进行可视化处理，并利用 Analyze network 计算 Degree 值, Degree 值越大则节点面积越大, 代表影响越大。从图 4 可以明显看出, ESR1、ESR、AR 和 PPARG 是 FKYRC 抗 AI 的关键靶点。

### 2.10 分子对接

利用 Aotodock 软件, 将槲皮素、甘草查尔酮 A 和木犀草素分别与 ESR1、ESR2; AR 和 PPARG 进行分子对接。结果显示, 所有对接得分均  $\leq -5.0$  kcal/mol, 表明 FKYRC 与靶点有较强的结合活性, 见表 7。ESR1 蛋白与 3 种活性成分的结合能均小于  $-8.0$  kcal/mol, 进一步证明 ESR1 是 FKYRC 抗 AI 的最关键靶点。从分子间结合氢键数量来看, 木犀草素与 AR 形成 5 个氢键, 槲皮素与 PPARG 形成 5 个氢键, 见图 5, 也表明这两组分子具有较好的结合活性。

表 7 4 个潜在靶点蛋白与 3 个活性成分分子对接的结合能 (kcal/mol)

靶点蛋白	槲皮素	甘草查尔酮 A	木犀草素
ESR1	-8.1	-8.6	-8.2
ESR2	-7.7	-7.2	-7.7
AR	-8.6	-6.3	-7.3
PPARG	-7.8	-7.2	-8.5

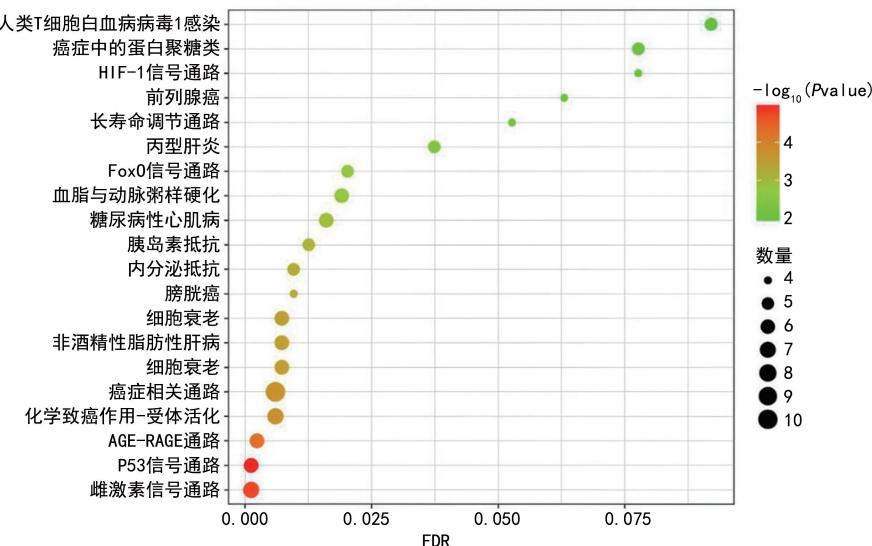
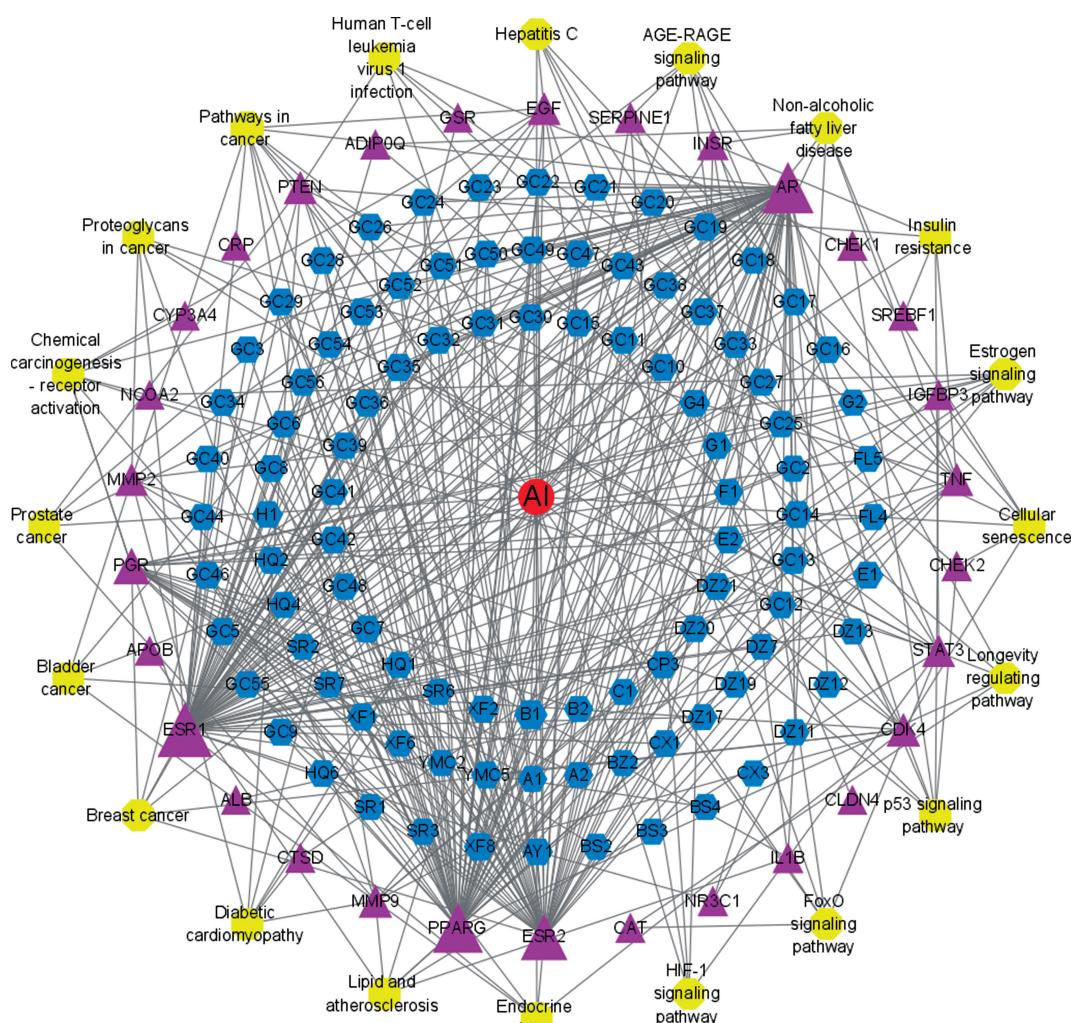
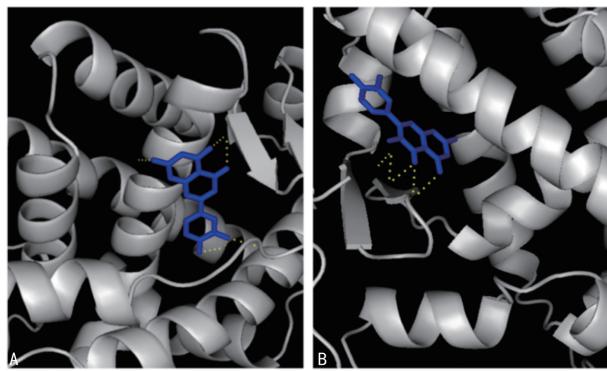


图 3 FKYRC 抗 Al 相关通路的 KEGG 通路富集分析



蓝色：活性成分；紫色：靶基因；黄色：信号通路；Hepatitis C 为丙型肝炎，AGE-RAGE signaling pathway 为晚期糖基化终末产物受体信号通路，Non-alcoholic fatty liver disease 为非酒精性脂肪性肝病，Insulin resistance 为胰岛素抵抗，Estrogen signaling pathway 为雌激素信号通路；Cellular senescence 为细胞衰老，Longevity regulating pathway 为长寿调节通路，p53 signaling pathway 为 p53 信号通路，FoxO signaling pathway 为叉头框 O 信号通路，HIF-1 signaling pathway 为缺氧诱导因子-1 信号通路，Endocrine resistance 为内分泌抵抗，Lipid and atherosclerosis 为脂质与动脉粥样硬化，Diabetic cardiomyopathy 为糖尿病性心脏病，Breast cancer 为乳腺癌，Bladder cancer 为膀胱癌，Prostate cancer 为前列腺癌，Chemical carcinogenesis-receptor activation 为化学致癌-受体激活通路，Proteoglycans in cancer 为癌症中的蛋白聚糖，Pathways in cancer 为癌症相关通路，Human T-cell leukemia virus 1 infection 为人类 T 细胞白血病病毒 1 型感染。

图 4 FKYRC 抗 AI 疾病-成分-靶点-通路网络



A:木犀草素与 AR 蛋白对接形成的氢键;B:槲皮素与 PPARG 蛋白对接形成的氢键。

图 5 潜在靶点与活性成分的分子对接图

### 3 讨 论

西医认为,多种因素共同导致的卵子发育成熟障碍和排卵障碍是引发 AI 的主要原因。周期性排卵依赖于下丘脑-垂体-卵巢轴的反馈和调节,卵泡发育或排卵任一环节异常均可导致排卵障碍。不仅会影响女性的生育功能,还有增加患乳腺癌及子宫内膜癌的发生风险<sup>[12]</sup>。目前,针对 AI 的治疗主要是促进排卵,提升不孕症患者的排卵率及生育率。中医学认为,AI 的根源在于肾气不足,致天癸、冲任、胞宫这一生殖轴的功能失去平衡。肾虚是导致该病的主要内在因素,而肝气郁结、血液瘀滞、体内痰湿等其他病理状态也可能同时出现。肾阴不足易导致卵子无法正常生成;肾阳不足易导致子宫得不到充分的滋养<sup>[13]</sup>。肾阴癸水充沛、达到或接近重阴水平是卵子顺利排出所必备的基础条件<sup>[14]</sup>。而当情志不畅、肝气郁结时,无法疏泄也会出现排卵功能障碍<sup>[15]</sup>。社会经济发展的同时,女性压力增加,劳累过度易导致精气耗损,焦虑、抑郁。不良情绪长期刺激,从而导致气血经络瘀滞不通;由于人工流产、宫腔操作率等逐年上升,金刃损伤胞宫胞络,导致瘀血内阻;久病体衰也会导致瘀阻形成<sup>[16]</sup>。而水湿运化与肺脾肾密切相关,脾虚运化失常,肾虚蒸腾气化受损,导致水湿停滞,痰湿为阴邪,阻遏气机,胞宫胞脉不通,而致不孕<sup>[17]</sup>。

本研究表明,治疗后,联合治疗组的总有效率高于中药组和西药组( $P < 0.05$ ),表明 FKYRC 可有效改善患者临床症状;治疗后,联合治疗组患者排卵率高于中药组和西药组( $P < 0.05$ ),表明 FKYRC 可提高排卵水平,改善生育力;治疗后,联合治疗组患者排卵前子宫内膜厚度也高于中药组和西药组( $P < 0.05$ ),表明 FKYRC 可改善子宫容受性。在有临床结果支持的同时,通过网络药理学方法,筛选出 FKYRC 的活性成分和潜在靶点,建立疾病-成分-靶点-通路网络,并利用分子对接技术进一步验证有效性,系统研究 FKYRC 对 AI 的治疗作用。

在筛选出的靶点中,ESR1 和 ESR2 与 AI 关联最

密切。而经过外源性雌激素治疗,排卵可以得到部分改善,进一步证明了排卵障碍与雌激素缺乏密切相关<sup>[18]</sup>。此外,AR 在卵母细胞、颗粒细胞和卵泡膜细胞中表达,而颗粒细胞中 AR 的正常表达对卵泡发育和下一步排卵至关重要。雄激素过多也会导致卵泡发育紊乱和排卵障碍,即多囊卵巢综合征<sup>[19]</sup>,所以 AR 的正常调节功能对 AI 的治疗也有重要意义。

另一靶基因 PPARG 对人卵巢颗粒细胞合成雌激素具有调节作用。PPARG 的激动剂曲格列酮是治疗多囊卵巢综合征的药物,它能够抑制卵巢颗粒细胞中细胞色素 P450 芳香化酶的活性,进而阻滞雄激素向雌激素的转化,减少雌激素的生成<sup>[20]</sup>。以上结果均说明,FKYRC 抗 AI 的 3 个核心靶点基因均与雌激素调节密切相关,而这也与 KEGG 富集结果中的雌激素信号通路对雌激素的调节功能上得到印证。

槲皮素是香附、益母草、黄芪、杜仲、艾叶、甘草的共有核心成分,疾病-成分-靶点-通路网络互作结果显示,槲皮素在 FKYRC 抗 AI 中发挥关键作用,杜仲具有补肝肾,安胎的功效,能够改善肾阳虚衰,属于肾经药效群<sup>[21]</sup>;而黄芪可明显提高血清 E<sub>2</sub> 和 AMH 水平,提高排卵障碍模型的卵巢储备能力<sup>[22]</sup>;益母草具有雌、孕激素样作用,能够修复子宫内膜损伤,其雌激素样效应可能是通过干预内源性雌激素的生成与代谢过程实现<sup>[23]</sup>。木犀草素与槲皮素均为香附的活性成分,香附同样具有雌激素样作用,促进卵泡发育和排卵<sup>[24]</sup>,这与 PPARG 的功能一致,而分子对接结果中木犀草素与 PPARG 较高的结合活性进一步证实了这一点。甘草中查尔酮类成分具有植物雌激素活性,而甘草查尔酮 A 是其主要成分,分子对接结果也表明,甘草查尔酮 A 与雌激素受体 1 具有较高的结合活性<sup>[25]</sup>。此外,熟地黄、阿胶、白芍和当归等调整内分泌,促进卵巢血液循环,为卵泡发育提供营养<sup>[26]</sup>。

综上所述,本研究结合临床观察的有效结果并通过网络药理学分析得出 FKYRC 中的活性成分能够综合调节 AI 的核心靶点,调节雌激素水平,促进卵泡发育成熟,提高机体整体功能,体现中药多层次、多靶点的治疗特点,为该病提供了新的参考和治疗方案。

### 参 考 文 献

- [1] 谢幸,孔北华.妇产科学[M].9 版.北京:人民卫生出版社,2018:361-363.
- [2] 贺钰,王紫莲,张永美,等.辅助生殖患者卵巢过度刺激综合征管理的最佳证据总结[J].浙江大 学学报(医学版),2024,53(5):632-640.
- [3] 谈勇,黄紫微.排卵障碍性不孕症的中西医结合诊治思考[J].中国中西医结合杂志,2019,39

- (5):521-524.
- [4] 吴波, 刘超. 健脾益气固冲汤联合养荣胶囊治疗围绝经期 DUB 患者的临床研究[J]. 中国地方病防治杂志, 2018, 33(5):581.
- [5] 周海根, 何志媛, 李黎. 诀诺酮联合妇科养荣胶囊治疗更年期功能性子宫出血的临床效果[J]. 中国当代医药, 2018, 25(28):126-128.
- [6] MUHAMMAD J, KHAN A, ALI A, et al. Network pharmacology: exploring the resources and methodologies[J]. Curr Top Med Chem, 2018, 18(12):949-964.
- [7] 王子怡, 王鑫, 张岱岩, 等. 中医药网络药理学:《指南》引领下的新时代发展[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(1):7-17.
- [8] 世界中医药学会联合会. 网络药理学评价方法指南[J]. 世界中医药, 2021, 16(4):527-532.
- [9] 许茜亚, 全松. 排卵障碍性不孕症的诊疗策略[J]. 实用妇产科杂志, 2020, 36(5):328-332.
- [10] 国家中医药管理局. 中医妇科病证诊断疗效标准: ZY/T 001.3-1994[S]. 北京: 中国标准出版社, 1994.
- [11] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则试行[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002.
- [12] HAN Y, LIN X. The relationship between psychological stress and ovulatory disorders and its molecular mechanisms: a narrative review[J]. J Psychosom Obstet Gynaecol, 2024, 45 (1): 2418110.
- [13] 万怡婷, 陈静, 张敏, 等. 朱氏调经促孕方加味结合克罗米芬对不孕症患者子宫内膜容受性的影响[J]. 上海中医药大学学报, 2020, 34(2):26-30.
- [14] 高婕, 宋珊珊, 杨陈敏, 等. 夏桂成教授辨治排卵障碍性不孕症治验[J]. 光明中医, 2024, 39(21): 4287-4290.
- [15] 莫婷婷, 刘雁峰, 陈然, 等. 补肾解郁调冲方治疗肾虚肝郁型多囊卵巢综合征不孕的临床研究[J]. 山东中医杂志, 2024, 43(7):700-706.
- [16] 马堃. 中西医结合诊治肾虚血瘀型排卵障碍性不孕(不育)优势的探究[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(11):2623-2628.
- [17] 王亚男, 李佳, 吴兆利, 等. 基于“痰湿不孕”探讨多囊卵巢综合征的辨治思路[J]. 辽宁中医杂志, 2024, 51(12):42-45.
- [18] JI S Y, LIU X M, LI B T, et al. The polycystic ovary syndrome-associated gene Yap1 is regulated by gonadotropins and sex steroid hormones in hyperandrogenism-induced oligo-ovulation in mouse[J]. Mol Hum Reprod, 2017, 23 (10):698-707.
- [19] ASTAPOVA O, MINOR B M N, HAMMES S R. Physiological and pathological androgen actions in the ovary[J]. Endocrinology, 2019, 160 (5):1166-1174.
- [20] MU Y, YANASE T, NISHI Y, et al. Insulin sensitizer, troglitazone, directly inhibits aromatase activity in human ovarian granulosa cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 271(3):710-713.
- [21] 程芬, 杨长花, 宋艳丽, 等. 盐炙杜仲对大鼠肾阳虚的影响及机制研究[J]. 中国药房, 2022, 33 (12):1460-1465.
- [22] 李美霖, 龚宇航, 田秀秀, 等. 黄芪山楂预防高脂饮食诱导的多囊卵巢综合征大鼠排卵障碍的研究[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(1):88-90.
- [23] 万峰, 王雅萍, 张霞, 等. 益母草注射液促进剖宫产术后子宫复旧临床研究[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2022, 38(12):1235-1238.
- [24] 周婷. 基于 CYP450 酶系对比研究香附与来曲唑对大鼠卵泡发育的影响及其机制[J]. 实用中西医结合临床, 2013, 13(7):87-88.
- [25] 韩静, 邵瑞, 王跃飞, 等. 甘草化学成分植物雌激素活性研究进展[J]. 天津中医药, 2017, 34(3): 212-216.
- [26] 程亚丹, 田君, 王继红. 妇科养荣胶囊联合心理治疗用于内分泌性不孕症的临床效果及安全性[J/CD]. 临床医药文献电子杂志, 2016, 3(47): 9423.

(收稿日期: 2025-02-28 修回日期: 2025-08-11)

(编辑: 管佩钰)